

研究紹介

葉が緑色なのは緑色光を効率よく利用するためである[§]

東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻
寺島 一郎

1. 光の話なのにまずRubiscoの話から

葉緑体チラコイド膜でつくられたATPとNADPHによって、Calvin-Benson回路が駆動される。この回路の主演、ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygenase (通称 Rubisco) は、葉緑体コードの大サブユニット 8個、核コードの小サブユニット8個からなる 16量体のタンパク質で、分子全体の分子量は550,000にのぼる。活性部位は各大サブユニットにあり、五炭糖二リン酸である、ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) がまず活性部位に組み込まれ、それをCO₂とO₂とが競争的にアタックする。CO₂飽和時のCO₂固定速度は3 mol CO₂ mol⁻¹ active site s⁻¹程度になる。この速度は、一般の酵素に比べると、2~3桁低い。また、RubiscoのCO₂に対するK_mは、25°Cで10~20 μMである。現在の大气中のCO₂濃度(390 ppm)と平衡状態にある25°Cの水のCO₂濃度12.3 μMが、K_mとほぼ等しい。21%O₂存在下では、みかけのK_mは1.5倍程度になる。大气中のCO₂は、濃度勾配にしたがって葉内に拡散するから、葉緑体内のCO₂濃度は、後述のように390 ppmよりも低い。したがって、葉内部で行われる実際のCO₂固定速度は、せいぜい1 mol mol⁻¹ active site s⁻¹程度である。Calvin-Benson回路で、CO₂が1分子固定されると、炭素1個相当の糖(1/3三炭糖リン酸)が作られ、RuBPが再生する。この回路を駆動するのに、3 ATPと2 NADPHが使われる。

一方、Rubiscoの活性部位に、RuBPが取り込まれ、O₂がこれをアタックすると、CO₂がアタックしたときの産物 phosphoglycerateに加えて、C₂化合物である phosphoglycolate が生成する。この phosphoglycolate は Calvin-Benson 回路の triose phosphate isomerase の強力な阻害剤である。したがって、植物はこれをすみやかに代謝しなければならぬ。また、phosphoglycolate に

含まれる炭素も、ATPとNADPHを使って固定したもののなので、この分子からなるべく多くのCを回収しなければならぬ。この二つの要求を満たすのがいわゆる「光呼吸」経路である。この経路は、葉緑体、ペロキシゾーム、ミトコンドリアの3つのオルガネラの共同によって行われる。これらのオルガネラが互いに近接した電顕写真は印象的だが、最近、光の存在下で、これらのオルガネラは細胞内を一緒に移動することが明らかになってきた¹⁾。

Phosphoglycolateの炭素は完全には回収されず、この分子に含まれる2個の炭素のうちの0.5個分はCO₂として放出される。この経路では、RuBPのoxygenationと、glycolateを酸化してglyoxylateが生成する際に、O₂が吸収される。後者の反応ではH₂O₂が生じるが、catalase反応によって1/2 O₂が発生する。これらのガスのnetの出入りはO₂の吸収、CO₂の放出なので、「光呼吸」という名前がついた。この名称が誤解の原因となっているが、光呼吸はミトコンドリアで行われる「呼吸」とは直接には関係なく、光合成反応の一部としてとらえるべき反応である。光呼吸経路では、RuBP oxygenation が1回おこると、3.5 ATPが消費され、2 NADPH 相当のエネルギーが消費される。また、この経路だけでは、5個の炭素をもつRuBPから0.5個分の炭素が失われることになるので、RuBPの再生は不可能である。このために炭素0.5個相当(1/6三炭糖リン酸)が補充されるとすれば、さらに1.5 ATPとNADPHが消費される。これらを合計すると、5 ATPと3 NADPHが使われることになる²⁾。

このように、oxygenation反応がおこると、大量のエネルギーと還元力を消費し、光合成の効率にとって大きなマイナスとなる。したがって、C₃植物はなるべく光呼吸を抑えるように進化してきたはずである。光呼

[§] 第9回日本光合成研究会シンポジウム ポスター賞受賞論文

* 連絡先 E-mail: itera@biol.s.u-tokyo.ac.jp

吸を抑制するために最も有効な方法は、葉緑体内のCO₂濃度をなるべく高く保つことであろう。

2. 葉緑体内のCO₂濃度

大気中のCO₂は、気孔を通して葉の内部に拡散する。この原動力は、光合成によって葉の内部のCO₂濃度が低下することによって生じる外気CO₂濃度との差である。CO₂は気孔から葉内に拡散し、細胞間隙の気相を拡散する。続いて、細胞壁のアポプラスト水に溶解込み、細胞膜、サイトゾル、葉緑体包膜を経てストロマに達する。このCO₂の拡散速度(=光合成速度)を電流にたとえると、CO₂濃度差は電位差に相当し、以下のようなオームの法則類似の式が成立する。

$$\text{光合成速度} = (\text{CO}_2\text{濃度差}) / \text{拡散抵抗}$$

拡散抵抗の逆数は、「CO₂ 拡散のしやすさ」であり、コンダクタンスとよばれる。CO₂拡散コンダクタンスは実測が可能で、その測定法のなかで最も信頼されているのは、Rubiscoが¹³CO₂と¹²CO₂とを分別することを利用した方法である。Rubiscoが完全な開放系にあれば、¹²CO₂を¹³CO₂よりも優先的に固定する。一方、完全な閉鎖系にあればどちらも固定してしまう。葉の中は、これらの中間の状態である。Rubisco自身の同位体分別のため、Rubiscoのまわりの¹³CO₂/¹²CO₂は外気の¹³CO₂/¹²CO₂よりも高くなる。そして、Rubiscoは相応の¹³CO₂を固定する。コンダクタンスが小さくCO₂が拡散しにくい場合には、固定するCO₂の¹³CO₂/¹²CO₂が大きくなる。

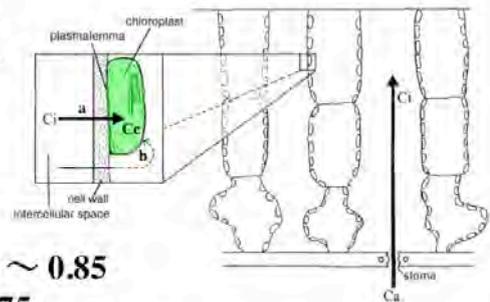
実際には、通常的气体交換測定と同時に、同化箱の前後で空気をサンプリングしてその¹³CO₂と¹²CO₂の比率を質量分析器で測定する。最近は、Tunable Laser Diode Absorption Spectroscopyによって、空気中の¹²CO₂と¹³CO₂の濃度を直接測定できるようになった。

図1はこのような測定の結果の概略である³⁾。

C_a、C_i、C_cを、空気、細胞間隙、ストロマのCO₂濃度、g_sを気孔コンダクタンス、g_mを葉肉コンダクタンスとすれば、葉の光合成速度 A を以下の式で表現できる。

$$A = g_s (C_a - C_i) = g_m (C_i - C_c)$$

C_a: ambient air
C_i: intercellular
C_c: stromal



$$C_i/C_a = (0.2) 0.6 \sim 0.85$$

$$C_c/C_i = 0.5 \sim 0.75$$

図1 葉の内部へのCO₂拡散経路とCO₂濃度⁽³⁾を改変

$$A = g_s (C_a - C_i) = g_m (C_i - C_c)$$

C_i/C_aは、C_c/C_iと同じオーダーの値をとるので、葉肉コンダクタンスは気孔コンダクタンスと同様、きわめて重要な光合成の律速要因である。

葉肉コンダクタンスを決定する要因も明らかになってきた。一つは、細胞間隙に面した葉緑体の積算表面積を葉面積で除した値(S_c)である。CO₂が液相を拡散する速度は気相の1/10,000程度でしかないので、葉の内部においてCO₂が溶け込む場所は、最短距離をとることができる部分、すなわち葉緑体が細胞膜/細胞壁を介して細胞間隙に接する部分である。実際、大部分の葉緑体は細胞壁に接した部分に存在する。Sennは1905年にこのことを指摘し、葉緑体のCO₂化学走性がある可能性にも言及した⁴⁾。しかし、葉緑体のCO₂走

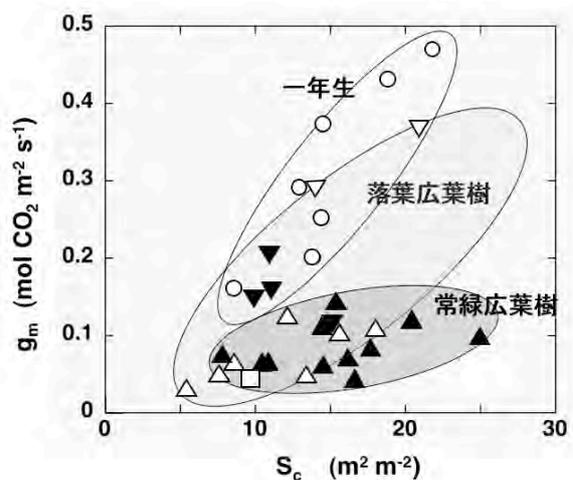


図2 葉肉コンダクタンスの積算葉緑体表面積(S_c)に対する依存性⁽⁵⁾を改変

○, 一年生草本; △, 落葉広葉樹; ▲▼, 常緑広葉樹。主として半場祐子らのデータに基づく。

性についてはほとんど研究が進んでいない。

図2は、これまでに得られた葉肉コンダクタンス g_m を Sc に対してプロットしたものである⁵⁾。このように、データは大きくバラつく。しかし、一年生草本、落葉広葉樹、常緑広葉樹などの生態型ごとにまとめると、 Sc への依存性が見えてくる。また、強い青色光によって葉緑体を強光位に定位させ、 Sc を変化させると、それに応じて g_m が変化すること⁴⁾や、成熟葉の強光馴化の際には Sc が増加し、それに応じて最大光合成速度が増加すること^{6,7)}などからも Sc の重要性がわかる。図2の生態型による傾きの違いは、葉肉細胞の細胞壁の厚さの違いによって説明できる^{5,8)}。例えば、一年生草本、落葉広葉樹、常緑広葉樹の葉肉細胞の細胞壁の厚さは、0.1~0.2、0.2~0.3、0.3~0.4 μm である⁵⁾。

また、 g_m を制御する要因として、細胞膜タンパク質のaquaporinが関与していることも明らかになってきた^{5,8)}。 CO_2 を透過させ、おそらくcarbonic anhydraseと協働 (cooperate) すると考えられることから、筆者はcooporinという呼び名を提唱している⁵⁾。

3. 葉の厚さの持つ意味

明るい光環境にある葉が、光合成活性を十分に高くするためには、大量の「大きくて遅い」Rubiscoを持たなければならない。その際、細胞のなかにびっしりとRubiscoを詰め込むわけにはいかない。Rubiscoのoxygenation活性を抑え、なるべく高い速度で CO_2 を固定させるためには、 Sc あたりのRubisco濃度を小さく、葉緑体を薄くして細胞膜にへばりつかせる必要がある。すなわち、 Sc は大きくし、葉肉コンダクタンスを大きくしなければならない。 Sc を大きくするためには、細胞表面積を大きくしなければならない。細胞の直径が変わらないとすれば、葉を厚くしなければならないのである⁹⁾。

4. なぜ葉は黒くないのか：葉の光学的性質

太陽光を効率よく吸収し利用するためには、黒い葉を作るのが理想的であるように思える。しかし、それは、吸収された光のエネルギーが非常に効率よく化学エネルギーに変換される場合に限る。すでに述べてきたように、葉が強い光を受けて十分な光合成を行うためには、Rubiscoを大量に含む葉緑体を相当量持たなければならない。また、Rubiscoになるべく高濃度の

CO_2 を供給するためには、葉緑体を細胞間隙に沿わせて配置しなければならない。そして、効率のよい光合成を行うためには、これらの葉緑体全てに十分な光が供給されなければならない。つまり、葉は、光をなるべく多く吸収することと、光をなるべく均一に分配することという一見相反する要求を同時に満たさなければならないのである。

よく、「葉が緑色に見えるのは葉が緑色光を吸収しないからである」、「緑色光は吸収されないのだから光合成には使われない」といわれる。しかし、葉は緑色光をかなり吸収し、吸収された緑色光は効率よく光合成に使われる。

葉は、屈折率が1.5程度の細胞と1.0の細胞間隙に含まれる空気とから成り立っているので、葉に入射した光は、葉の内部を行ったり来たりする。光が葉緑体に何度も遭遇することで光の吸収率は上昇する。この効果は、一度葉緑体に遭遇しただけで、ほとんどが吸収されてしまうような青色光や赤色光の吸収率上昇には

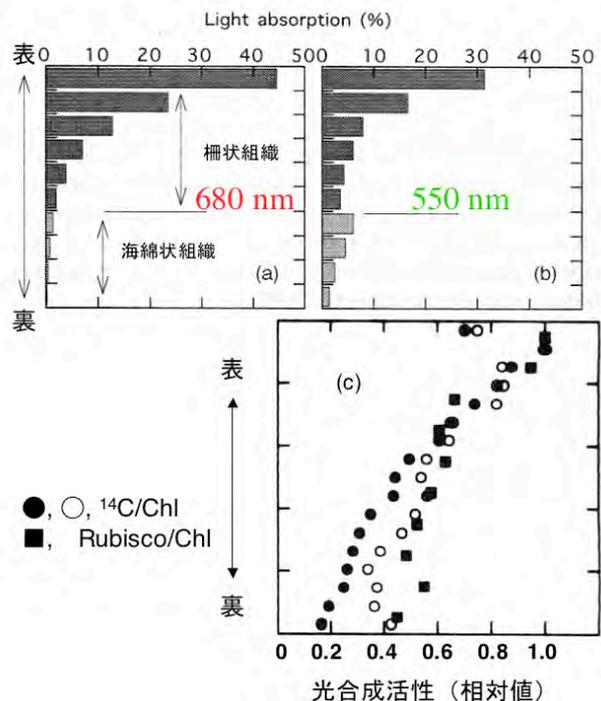


図3 葉の内部の光吸収勾配と光合成能力勾配
(a), (b), ヤブツバキの葉の切片の透過率および反射率の測定 (Terashima and Saeki, 1983) に基づいて計算した吸収率 (Terashima and Saeki, 1985) を改変したもとに描いた。各層のクロロフィル含量は0.5 mg dm^{-2} (約0.056 mmol m^{-2})。
(c), ホウレンソウの切片におけるクロロフィルあたりのRubisco定量のデータ (Terashima and Inoue, 1985) と、ホウレンソウの葉に飽和光下で $^{14}C O_2$ を与えて取り込みをみたデータ (Vogelmann et al. 1995) を合わせて描いた。

ほとんど役立たないが、一度葉緑体に遭遇しただけではそれほど吸収されない緑色光の吸収率を著しく上昇させる。その結果、一般の緑葉では、青色光や赤色光の吸収率が90%程度であるのに対して、緑色光の吸収率も70~80%程度である¹⁰⁾。また、1970年頃までには弱光条件下で測定した光合成の作用スペクトルが多数得られており、一旦吸収されれば緑色光も光合成を高効率で駆動することが分かっている¹⁰⁾。

5. 葉の内部の光環境と光合成システムの構築原理

筆者は、Monsi and Saeki (1953)が葉群の光環境と群落光合成との関係を解析した手法を葉のレベルに適用した研究を行ってきた^{10,11)}。

図3-(a)と (b) には、ヤブツバキの、柵状組織と海綿状組織をもつ典型的な背腹葉から得た組織切片の透過率や反射率の実測値から計算した、葉の内部における光吸収パターンを示してある。各層は面積あたりのクロロフィル量が等しくなるように設定してある。表側から光を照射すると、680 nm (赤色光) のような吸収の強い波長の光は、柵状組織の上部でそのほとんどが吸収されてしまう。一方、550 nm の緑色光のかなりの部分は、海綿状組織にまで到達する。海綿状組織では、光が散乱され葉緑体との遭遇の機会が増すため、550 nm光もよく吸収される。このように海綿状組織が葉の裏側に存在することは葉の内部で緑色光を吸収するためにきわめて有利な性質と言えよう。

柵状組織は表皮に密着しているため、光は葉の中に透過しやすく、反射も小さい。表裏のはっきりした葉の表側の色が濃いのは、表側で反射が抑えられているからである。一方、葉の裏側が白っぽく見えるのは、海綿状組織の不定形の細胞が表皮とあまり密着していないために、裏側から入射した光が葉緑体に遭遇する以前に「門前払い」されるためである。裏側の反射率が高いのは、自然条件下で表側から入射した光を吸収し尽くすために役立っている海綿状組織の形態の反映であり、裏側からあたる光を反射するための性質ではない。

葉内部に形成される光吸収量の勾配に対して葉緑体が光環境馴化するのも、葉の内部には、陽葉緑体~陰葉緑体の勾配が形成される (図3-(c))。葉の組織分化や葉緑体の馴化は、葉の内部のすべての葉緑体が高効率で機能する方向に作用し、葉全体の光資源や窒素資源

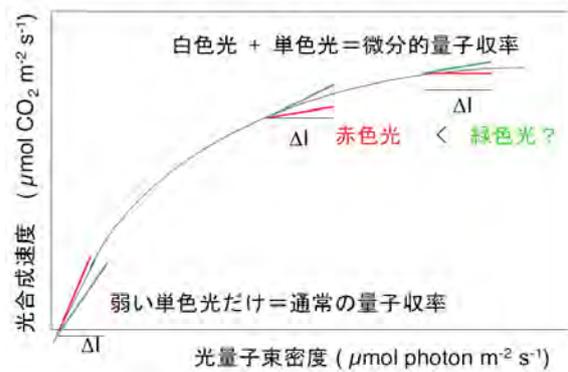


図4 微分的量子収率測定法¹⁰⁾を改変)

通常の光合成作用スペクトルが、弱い単色光を用いて求められるのに対して、この方法では強い白色光存在下で弱い単色光を照射する。効率を照射光量子束密度に対してプロットすると、ごく弱い光量子束密度では、葉の吸収率を反映して赤色光の方が高効率だが、強い白色光が共存すると緑色光の方が、効率が高い可能性がある。

の利用効率の上昇に大きく寄与している (図5で詳しく解説する)。

しかし、図3の図では、葉内の光吸収の勾配の方が、葉緑体の最大光合成速度の勾配よりも大きい。もちろん種が異なるので図3を直接比較しても意味はないが、これまでに数種の植物について調べられた限りにおいて、光の吸収量が少ない部分の葉緑体においても、光合成活性は吸収量の減少ほどには低くはないという傾向は一般的である。おそらく葉緑体が光環境への馴化の幅 (dynamic range) がそれほど大きくないことがその理由だろう。

ともかく、多くの緑葉では、光が強くなると表側の葉緑体の光合成が先に光飽和し、裏側に近い葉緑体は光飽和に達していないという状況が起こる。このような場合に白色光の強度を高めると、それに含まれる赤色光や青色光の多くは表側の光飽和に達した葉緑体に吸収され、そのエネルギーのほとんどは熱として散逸されることになる。一方、葉緑体に吸収されにくい緑色光はかなり葉の奥深くに届き、光飽和に達していない葉緑体の光合成を駆動するはずである。このアイデアに基づき、強い白色光に弱い単色光を足して、その時の光合成速度の増分を測定する方法を考案し、「微分的量子収率測定法」と名付けた¹⁰⁾。測定原理を図4に示してある。ある光量子束密度の白色光照射下で、まず光合成速度を測定する。次に、白色光はそのままにしておいて、弱い単色光を足し、その時の光合成速度の増分 (ΔA) を足した単色光の光量子束密度

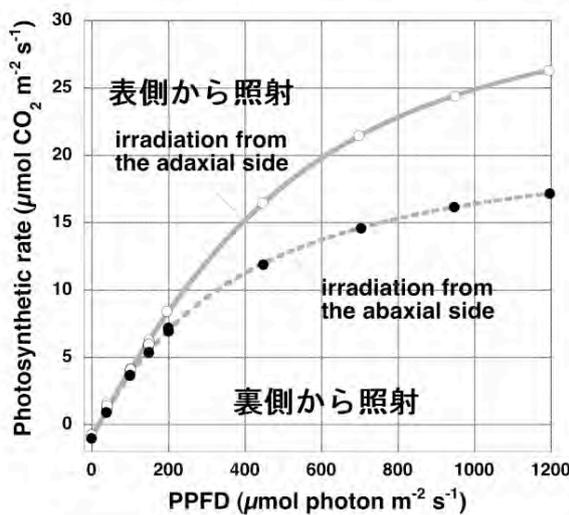


図5 照射方向を変えて得られた同一のヒマワリ葉の光-光合成曲線⁽¹⁰⁾を改変)

葉温25°C、外気CO₂濃度390 ppmで測定した光-光合成曲線。照射方向によって大きく曲線が異なる。表側から照射した方が光律速段階から光飽和段階へのうつりかわり移り変わりがシャープである。

(ΔI) で割ったものが微分的量子収率 ($\phi = \Delta A / \Delta I$) である。具体的な測定方法は図6に示してある。

まず、一枚のヒマワリの葉について、表側から光を照射した場合と裏側から光を照射した場合とで、光-光合成曲線を比較しよう。図5に見られるように、曲線は大きく異なる。裏側から照射すると海綿状組織に多くの光が吸収され、表側に存在する陽葉緑体にはあまり光が到達しない。このため、全部の葉緑体を光飽和させるためには、著しく強い光が必要となる。一方、表側から光を照射した場合には、柵状組織と海綿状組織の分化と、陽葉緑体-陰葉緑体の勾配が、全葉緑体が同時に光飽和に達する方向に作用して、葉全体の光-光合成曲線は、かなりシャープになる。しかし、すでに述べたように、これらの作用は完璧ではない。

この葉に、微分的量子収率測定法を適用した結果を図6に示してある。横軸は照射光の光量子束密度である。大まかにいえ

ば、微分的量子収率は光-光合成曲線の傾きに対応するので、光量子束密度の上昇とともに低下する。表側から光を照射した場合、光量子束密度がごく小さいときには、葉の吸収率の違いを反映して、赤色光の方が緑色光よりも効率がよい。しかし、200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上では、赤色光よりも緑色光を足した方が光合成速度上昇に有効だった。裏側から光を照射した場合には、それよりもはるかに弱い光で、緑色光が有効となる。それは裏側の組織の方が光を吸収しやすく、葉緑体は弱い光で光飽和に達するからである。

ある強度の白色光中の単色光の平均量子収率は、微分的量子収率を0からその光強度まで積分することによって求められる⁽¹⁰⁾。実際に計算してみると、光を表側から照射した場合には、400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上で、緑色光の平均量子収率が赤色光よりも大きくなった。これらから、強い光の下では、緑色光の方が、赤色光や青色光よりも効率よく光合成を駆動すると結論できる。もちろん、種々の葉について同様の測定を行う必要があるが、自然界における緑色光の平均量子収率は、赤色光とそれほど変わらないかもしれない。

このように、葉はかなりうまく緑色光を光合成に使っている。陸上植物が、クロロフィルという緑色光を吸収しにくい色素を使い続けているのも、緑藻から引き継いだこの色素の効率が、悪くはなかったからだろう。もちろん、吸収しにくい波長域が緑でなければならない理由はどこにもない。

磯で緑藻類の帯状分布の最下部に生息するミルなど

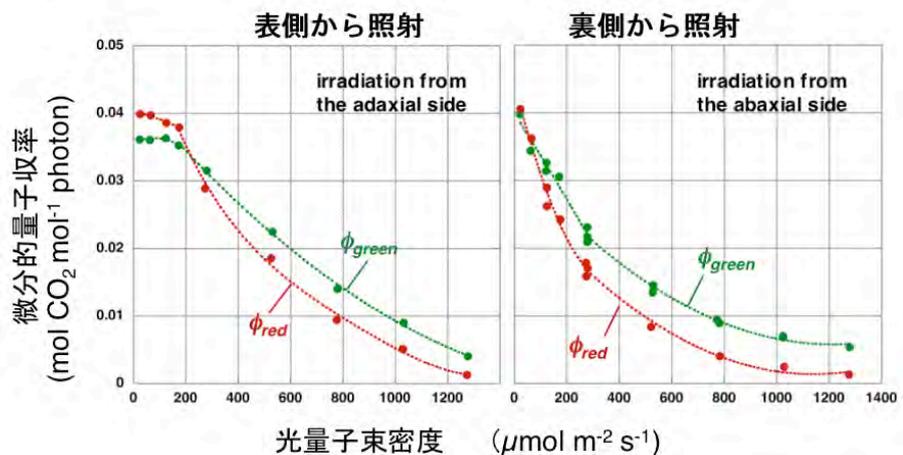


図6 赤色光(550 nm)と緑色光(668 nm)の微分的量子収率の光強度依存性⁽¹⁰⁾を改変)

図5と同じ条件で測定。白色光の光量子束密度は、0、40、100、150、200、450、700、950、1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。加えた単色光の光量子束密度は、白色光が150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下の場合には50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上の場合には、150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。左側は表側から照射した場合、右側は裏側から照射した場合である。

は、緑色光を吸収し効率よく光合成に使うことができるシホナキサントフェンとよばれるカロチノイドを持っているため黒く見える。したがって、クロロフィルを主要な光合成色素として持っていたとしても黒い葉緑体を作ることができる。暗いところならば、黒い葉緑体を持つのがよいのだろう。陸上では光がはるかに強いため、黒い葉が作られることはなかったのかもしれない。しかし、極端に暗い光環境を好む陸上植物などの色素系を、丁寧に解析してみる価値はあるだろう。

Received March 10, 2010, Accepted March 25, 2010,
Published April 30, 2010

参考文献

1. Islam, Md. S., Niwa, Y., and Takagi, S. (2009) Light dependent intracellular positioning of mitochondria in *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells, *Plant Cell Physiol.* 50, 1032-1040.
2. Held, H.W. (金井 龍二 訳) . (2000) 植物生化学 (原著 Pflanzenbiochemie 第2版, 1999) . シュプリンガー・フェアラーク東京.
3. Terashima, I., Araya, T., Miyazawa, S-I., Sone, K., and Yano, S. (2005) Construction and maintenance of the optimal photosynthetic systems of the leaf, herbaceous plant and tree: An eco-developmental treatise, *Ann. Bot.* 95, 507-519.
4. Tholen, D., Boom, C., Noguchi, K., Ueda, S., Katase, T., and Terashima, I. (2006) The chloroplast avoidance response decreases internal conductance to CO₂ diffusion in *Arabidopsis thaliana* leaves, *Plant Cell Environ.* 31, 1688-1700.
5. Terashima, I., Hanba, Y.T., Tazoe, Y., Vyas, P., Yano, S. (2006) Irradiance and Phenotype: Comparative eco-development of sun and shade leaves in relation to photosynthetic CO₂ diffusion, *J. Exp. Bot.* 57, 343-354.
6. Oguchi, R., Hikosaka, K., Hirose, T. (2003) Does the photosynthetic light acclimation need changes of leaf anatomy?, *Plant Cell Environ.* 26, 505-512.
7. Oguchi, R., Hikosaka, K., Hiura, T., and Hirose, T. (2006) Gap formation and photosynthetic acclimation in woody seedlings in a cool-temperate deciduous forest, *Oecologia* 149, 571-582.
8. Evans, J.R., Kaldenhoff, R., Genty, B., Terashima, I. (2009) Resistances along the CO₂ diffusion pathway inside leaves, *J. Exp. Bot.*, 60, 2235-2248.
9. Terashima, I., Miyazawa, S., Hanba, Y.T. (2001) Why are sun leaves thicker than shade leaves? – Consideration based on analyses of CO₂ diffusion in the leaf, *J. Plant Res.* 114, 93-105.
10. Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W.S., and Oguchi, R. (2009) Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: Revisiting the enigmatic question of why leaves are green, *Plant Cell Physiol.* 50, 684-697.
11. Terashima, I. and Hikosaka, K. (1995) Comparative ecophysiology/anatomy of leaf and canopy photosynthesis, *Plant Cell Environ.* 18, 1111-1128.

Leaves Are Green so as to Use Green Light Efficiently

Ichiro Terashima *

Graduate School of Science, University of Tokyo